Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 12, No. 1, Spring 2020, p. 87-101

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد 12، شماره 1، بهار 1399، ص. 101-87

اثر عصاره گیاه چای ترش بر سامانه ایمنی، وضعیت پاداکسیدانی پلاسما، تعادل اکسیدانی و فراسنجه‌های عملکردی و بیوشیمیایی خون مرغ‌های تخم‌گذار مسن

شهین ثابت سروستانی[1]، سید محمد حسینی[2*]، سید همایون فرهنگ‌فر[3]

تاریخ دریافت: 1397/10/01
تاریخ پذیرش:1398/04/03

چکیده

از آن‌جا که دانش کافی درباره غلبه بر شرایط پرتنش طبیعی، با کمترین هزینه و بدون عوارض جانبی، در مرغ‌های تخم‌گذار مسن وجود ندارد، دو آزمایش با هدف بررسی اثر عصاره گیاه چای ترش، به عنوان یک پاداکسیدان طبیعی، بر سامانه ایمنی، فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون، وضعیت پاداکسیدانی پلاسما و تعادل اکسیدانی مرغ‌های تخم‌گذار مسن در دوره‌های تولک و پس از تولک و نیز ارزیابی صفات عملکردی و کلسترول زرده تخم-مرغ‌های تخم‌گذار در مرحله دوم تولید (بعد از تولک) طراحی شد. بعد از تعیین خواص پاداکسیدانی در مرحله پیش آزمایش، هر یک از آزمایش‌های اصلی با 200 قطعه مرغ تخم‌گذار سویه های-لاین W-36 در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. در هر دو آزمایش، 5 تیمار آزمایشی به ترتیب شامل جیره شاهد، جیره پایه به همراه 300 و 700 میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره برگ و جیره پایه با 300 و 700 میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره کاسبرگ بود. برخلاف دوره پس از تولک، تلاش برای افزایش پایداری اکسیداتیو در دوره تولک موفقیت‌آمیز بود، به طوری که کاسبرگ چای ترش در سطوح 300 و 700 میلی‌گرم در کیلوگرم تعادل اکسیدانی و ظرفیت کل پاداکسیدانی پلاسمای مرغ‌های تخم‌گذار تولک رفته را به طور معنی‌داری بهبود بخشید. همچنین کاهش معنی‌دار گلوکز، کلسترول و تری‌گلیسرید خون در دوره پس از تولک و کاهش معنی‌دار کلسترول و تری‌گلیسرید خون در دوره تولک به وسیله سطح 700 میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره برگ چای ترش مشاهده گردید. چای ترش بر صفات عملکردی و سامانه ایمنی تأثیر معنی‌داری نداشت.

واژه‌های کلیدی: تولک‌بری، تیترآنتی‌بادی، چای ترش، مالون‌دی‌آلدهید.

مقدمه

تولک‌بری که یک تصمیم اقتصادی ضروری در صنعت پرندگان اهلی است، معمولاً فراتر از یک پرریزی دوره‌ای است، زیرا به غیر از تغییرات فیزیولوژیکی در سیستم تولیدمثل پرنده (38)، تغییر در نرخ متابولیسم (56) و افزایش در میزان عفونت (12) و نسبت هتروفیل به لنفوسیت (18) در این شرایط پرتنش رخ می‌دهد. گزارش شده است که بهبود جیره مرغ‌های تخم‌گذار در دوره تولک، می‌تواند به احیای سریعتر و عملکرد مطلوب‌تر آن‌ها بعد از تحمل تنش‌های این دوره، کمک کند (8، 43). علاوه بر دوره تولک، در فاز آخر تولید نیز، همزمان با افزایش سن، مرغ‌های تخم‌گذار تنش اکسیداتیو زیادی را متحمل می‌شوند و بدن آن‌ها حساس به اثرات محیطی خارجی است که به کاهش عملکرد آن‌ها منجر می‌شود (6). در صنعت پرندگان اهلی، محدود کردن استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها و مواد نگهدارنده مصنوعی، بازگشت بیماری‌های عفونی و خسارت‌های اقتصادی را برای مرغدار به دنبال دارد (13). به همین دلیل، امروزه کاربرد داروهای گیاهی علاقه فزاینده‌ای را به وجود آورده است (79). یکی از این گیاهان، چای ترش (*هیبیسکاس سابداریفا*[2]) نام دارد که در ایران به نام‌های چای قرمز و چای مکی نیز معروف است و غنی از اسیدهای آلی (اسید سیتریک، اسید آسکوربیک، آراشیدیک، استئاریک و اسید مالیک)، پلی‌فنول‌ها (روتین، ایزوگوئرسیترین، آنتوسیانین، اسید فنولیک، فلاونوئید)، فیتوسترول‌ها (بتا-سیتوسترول و ارگوسترول)، پکتین و فیتواستروژن‌ها (گوئرستین[3] و دیدزین[4]) می باشد (36، 59،

1 – دانش آموخته دکتری، گروه علوم دامی، دانشگاه بیرجند
2 - دانشیار، گروه علوم دامی، دانشگاه بیرجند
3- استاد، گروه علوم دامی، دانشگاه بیرجند
(*- نویسنده مسئول: Email: shosseini@birjand.ac.ir)
DOI:10.22067/ijasr.v12i1.77717

2- *Hibiscus sabdariffa*
3- Quercetin
4- Daidzein

73). فواید گوناگونی به این مواد شیمیایی گیاهی نسبت داده می‌شود که شامل ویژگی‌های ضدباکتریایی، استروژنی، پاداکسیدانی و همچنین تنظیم سوخت و ساز چربی است (54، 75). در جوجه‌های گوشتی، تأثیر منفی آفلاتوکسین بر اندام‌های داخلی بدن، پاسخ ایمنی و عملکرد تولیدی (46) و در مرغ‌های تخم‌گذار تأثیر منفی تنش گرمایی بر نسبت هتروفیل به لنفوسیت و نرخ مرگ و میر به وسیله چای ترش کاهش یافت (45). هیچ گزارشی درباره مکمل کردن کاسبرگ و به ویژه برگ چای ترش در جیره مرغ‌های تخم‌گذار مسن در شرایط پرتنش طبیعی مثل دوره‌های تولک و پس از تولک منتشر نشده است. از آن‌جا که تنش باعث افزایش نیاز به پاداکسیدان‌ها (15)، کاهش تولید (60) و افت عملکرد ایمنی بدن (42) می‌شود، این پژوهش، به منظور بررسی اثر عصاره آبی-الکلی کاسبرگ و برگ چای ترش، به عنوان پاداکسیدان‌های طبیعی، بر فراسنجه‌های عملکردی و بیوشیمیایی خون، کلسترول و تری‌گلیسرید زرده تخم-مرغ، تعادل اکسیدانی، کل ظرفیت پاداکسیدانی پلاسما و سامانه ایمنی مرغ‌های تخم‌گذار مسن در دوره‌های تولک و پس از تولک طراحی شد.

مواد و روش‌ها

کاسبرگ و برگ چای ترش از جهاد کشاورزی شهرستان دلگان واقع در استان سیستان و بلوچستان خریداری شده و در مجاورت هوا و در سایه خشک و سپس آسیاب شد. برای تهیه عصاره آبی- الکلی، 10 گرم از ماده مورد نظر با 70 میلی‌لیتر آب مقطر استریل و 30 میلی‌لیتر الکل (اتانول 96 درصد) به مدت 24 ساعت توسط دستگاه همزن مخلوط شده و در نهایت توسط کاغذ صافی صاف گردید (5). در مرحله پیش آزمایش، مقدار کل ترکیبات فنولیک با استفاده از روش اسید گالیک و معرف فولین سیکالتو (17)، آنتوسیانین با استفاده از روش تغییرات pH (67)، پاداکسیدان کل با استفاده از روش DPPH (70) و ویتامین C با استفاده از روش تیتراسیون (64) در کاسبرگ و برگ چای ترش اندازه‌گیری شد. هر یک از آزمایش‌های اصلی، به صورت جداگانه، در سالن 40 هزار قطعه‌ای پرورش تجاری مرغ تخم‌گذار سویه "های لاین W-36 واقع در استان خراسان جنوبی (شهرستان سربیشه)، مجتمع کشت و صنعت بیدمشک، در قالب طرح کاملاً تصادفی با 5 تیمار، 4 تکرار و 10 پرنده در هر تکرار انجام شد. 5 تیمار آزمایشی به ترتیب شامل جیره شاهد (جیره پایه)، جیره پایه به همراه 300 و 700 میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره برگ چای ترش و جیره پایه با 300 و 700 میلی گرم در کیلوگرم عصاره کاسبرگ چای ترش انجام شد. جیره شاهد بر پایه ذرت- سویا بر اساس یک جیره تجاری آماده شد. مدت آزمایش، در دوره تولک 4 هفته (80 تا 84 هفتگی) و در دوره تولید پس از تولک 6 هفته (84 تا 90 هفتگی) در نظر گرفته شد که از نظر تولید، پرندگان در سه هفته اول پس از تولک بین 5 تا 50 درصد تولید و در سه هفته دوم در مرحله 50 درصد تا پیک تولید بودند. دمای سالن در 23 درجه سانتی-گراد تنظیم شد و برنامه نوری، 16 ساعت تاریکی و 16ساعت روشنایی به ترتیب برای دوره‌های تولک و پس از تولک بود. محرومیت از غذا و تاریکی در 3 روز اول دوره تولک اعمال شد. سپس به مدت یک هفته، 20 گرم خوراک (10 گرم سبوس گندم + 10 گرم پودر پوسته صدف) به ازای هر پرنده (جیره 1: جدول 1) داده شد و بعد از آن پرندگان با جیره غذایی دومی به مدت 20 روز تا رسیدن به سطح تولید 5 درصد (جیره 2: جدول 1) تغذیه شدند. این جیره غذایی با 50 گرم به ازای هر پرنده آغاز شد و هر 2 روز 10 گرم اضافه شد تا مصرف خوراک روزانه هر پرنده به 100 گرم رسید. در آزمایش پس از تولک نیز روزانه به ازای هر پرنده، 100 گرم خوراک در اختیار مرغ‌ها قرارگرفت. در انتهای دوره هر آزمایش، پنج سی‌سی خون از ورید بال دو پرنده از هر تکرار در لوله‌های دارای ماده ضد انعقاد جمع-آوری شد و بعد از سانترفیوژ با دور 3000 در دقیقه به مدت 15 دقیقه، پلاسما جمع‌آوری گردید. میزان MDA به عنوان شاخص پاداکسیدانی در پلاسمای خون (77) و زرده تخم‌مرغ (16) 2 نمونه از هر تکرار به وسیله اسپکتوفوتومتر اندازه‌گیری شد. اساس روش اندازه‌گیری MDA، واکنش با اسید تیوباربیتوریک (TBA) و اسید تری‌کلرواستیک (TCA)، اندازه‌گیری جذب اسپکتروفتومتری و مقایسه جذب با منحنی استاندارد بود. نمونه پلاسمای خون (200 میکرولیتر) با 2 سی‌سی از محلول اسید تیوباربیتوریک مخلوط و به مدت 30 دقیقه در حمام آب گرم با دمای 80 درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از سرد شدن و افزودن 2 سی‌سی بوتانول به لوله آزمایش، به مدت 10 دقیقه در دور 3000 سانترفیوژ شد تا دو لایه جدا شده و جذب لایه رویی در 531 نانومتر خوانده شود. در مورد زرده تخم‌مرغ، 2 گرم از نمونه زرده با 18 میلی‌لیتر محلول آبی اسید تری‌کلرواستیک (3/86 درصد) به طور کامل همگن و از کاغذ صافی عبور داده شد. سپس، 2 سی‌سی از محلول تهیه شده با 2 سی‌سی از محلول اسید تیوباربیتوریک (0/8 درصد) مخلوط و به مدت 30 دقیقه در حمام آب گرم با دمای 80 درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از سرد شدن، جذب نمونه‌ها در 531 نانومتر خوانده شد. ظرفیت کل پاداکسیدانی پلاسما نیز، با استفاده از دستگاه جذب نوری اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری گردید. کیت مورد استفاده، از شرکت راندوکس ساخت کشور انگلیس (شماره NX 2331)، طول موج و دمای مورد استفاده، به ترتیب، 600 نانومتر و 37 درجه سانتی‌گراد بود (44). برای مقایسه عملکرد سامانه ایمنی بین تیمارها، در انتهای هر آزمایش، خون‌گیری از ورید بال 8 مرغ از هر تیمار به منظور اندازه‌گیری نسبت هتروفیل به لنفوسیت (H/L) و عیار پادتن در برابر ویروس نیوکاسل با استفاده از روش مهار هماگلوتیناسیون (HI) انجام شد.

جدول1- اجزای مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره پایه

Table 1- The ingredients and chemical composition of basal diet

مواد خوراکی (درصد) Ingredients(%)	پس از تولک Post molting		تولک Molting	
	50 درصد تا پیک تولید 50 % to production peak	5 تا 50 درصد تولید 5 to 50% production	جیره 2 Diet 2	جیره1 Diet 1
ذرت Corn	47.00	50.40	55.35	-
سبوس گندم Wheat bran	-	-	-	50.00
سویا Soybean	25.40	24.50	22.30	-
جو Barley	11.00	8.50	10.00	-
سبزینه[1] Organic herbal powder[1]	1.00	1.50	1.50	-
روغن سویا Soybean oil	2.20	1.80	1.50	-
دی کلسیم فسفات Dicalcium phosphate	1.90	1.72	1.75	-
کلسیم کربنات (پودر صدف) Calcium carbonate	9.20	9.00	5.00	50.00
نمک Salt	0.20	0.20	0.20	-
جوش شیرین Sodium bicarbonate	0.15	0.20	0.20	-
بنتونیت Bentonite	0.81	1.01	1.00	-
متیونین Methionine	0.12	0.12	0.15	-
لیزین Lysine	0.10	0.05	0.05	-
ترئونین Threonine	0.075	0.10	0.10	-
کولین Choline	0.05	0.05	0.05	-
مکمل ویتامینه و مینراله [2] Vitamin and mineral supplements[2]	0.60	0.60	0.60	-
تک‌ویتامین‌ها ($A,D_3,E,K,B_{complex}$) Vitamins ($A,E,D3,K,B_{complex}$)	0.20	0.25	0.25	-
ترکیب شیمیایی (درصد) Chemical composition (%)				
انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری بر کیلوگرم) Energy (kcal/kg)	2675.59	2676.25	2809.27	650.00
پروتئین Protein	16.84	16.48	16.13	7.85
فیبر Fiber	3.58	3.58	3.61	5.50
لیزین lysine	0.91	0.83	0.80	0.22

متیونین+سیتئین Methionine + Cysteine	0.77	0.75	0.73	0.19
کلسیم Calcium	4.10	3.99	2.43	19.57
فسفر Phosphorus	0.46	0.42	0.43	0.10
سدیم Sodium	0.134	0.148	0.149	0.025

[1]هر کیلوگرم سبزینه حاوی: 2440 kcal/kg انرژی،% 10/9 پروتئین، % 3/3 چربی و % 22/4 فیبر است.

[2]هر کیلوگرم مکمل مینراله و ویتامینه حاوی: منگنز 36000 mg/kg، روی 32000 mg/kg ، مس 3200 mg/kg، ید 480 mg/kg، سلنیوم 88 mg/kg، آهن 16000 mg/kg، 360 mg/kg B9، 3200000 Iu/kg A، 1320000 Iu/kg D3، 8000 Iu/kg E، 1000 mg/kg K3، 1000 mg/kB1، 2200 mg/kg B2، کالپان 3200 mg/kg، نیاسین 12000 mg/kg، 1600 mg/kg B6، 9 mg/kg B12، بیوتین 30 mg/kg، کولین 44000mg/kg، پاد اکسیدان 3000 mg/kg است.

[1] Each kg of herbal organic powder contains: Energy 2440 Kcal/kg, Protein 10.9%, Fat 3.3%, Fiber 22.4%.

[2]Each kg of minerals and vitamins supplement contains: Manganese 36000 mg/kg, Zinc 32000 mg/kg, Copper 3200 mg/kg, Iodine 480 mg/kg, Selenium 88 mg/kg, Iron 16000 mg/kg. 3200000 Iu/kg vitamin A, 1320000 Iu/kg vitamin D_3, 1000 mg/kg vitamin K_3, 8000 Iu/kg vitamin E, 1600 mg/kg vitamin B_6, 12000 mg/kg Niacin, 3200 mg/kg Calpan, 1000 mg/kg vitamin B_1, 2200 mg/kg vitamin B_2, 360 mg/kg vitamin B_9, 9 mg/kg vitamin B_{12}, 30 mg/kg Biotin, 3000 mg/kg Antioxidant, 44000 mg/kg Choline.

گلوکز و لیپوپروتئین با دانسیته بالا (HDL)[1] در پایان دوره هـر آزمایش، توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر اتوآنالایزر (Chem Gesan 200, Italy) و کیت‌های آزمایشگاهی شرکت پارس آزمون ایران اندازه گیری شد. لیپوپروتئین با دانسیته پایین (LDL)[2] با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد که در آن TC بیانگر کلسترول تام خون است (19).

1) LDL= 3/4 (TC- HDL)

در مرحله پس از تولک، تخم‌مرغ‌های تولیدی هر تکرار بـه طـور روزانه جمع‌آوری و تعداد آن‌ها در طی 6 هفته ثبـت گردیـد. سـپس، درصد تخم‌گذاری در کل دوره محاسبه شد. توده تخم‌مرغ تولیـدی از حاصلضرب درصد تولید در میانگین وزن تخم‌مرغ واحـد آزمایشـی و ضریب تبدیل خوراک هفتگی از تقسیم خوراک مصرفی هفتگی یـک واحد آزمایشی به توده تخم‌مرغ تولیـدی آن واحـد در همـان هفتـه، محاسبه گردید (50). به منظور اندازه‌گیری سطح کلسـترول و تـری-گلیسرید زرده در انتهای هفته‌های 3 و 6 آزمایش، از هر تیمار به طور تصادفی 8 نمونه انتخاب و پس از جدا کردن زرده و مخلوط نمـودن آن‌ها، 2 نمونه از هر تکرار جدا و به وسیله کیـت‌هـای آزمایشـگاهی شرکت پارس آزمون ایـران بـا روش آنزیمـی لـوهمن (39)، غلظـت کلسترول و تری‌گلیسرید زرده تعیین شد. در ایـن روش، ابتـدا دقیقـاً 1/00 گرم زرده با 50 میلی‌لیتـر سـود (NaOH بـا مولاریتـه 0/05) مخلوط و سپس این محلول توسط 50 میلـی‌لیتـر اسـید کلریـدریک (HCl با نرمالیته 0/25) خنثی شد. در مرحله بعد، حدود یک میلی‌لیتر از محلـول را برداشــته و بــه دسـتگاه اسـپکتروفوتومتر اتوآنــالایزر (Gesan Chem 200, Italy) تزریق گردید. داده‌های آزمایش پس از ورود به برنامه اکسل، به وسیله نرم افـزار SAS نسـخه 9.4 (62) و رویه MIXED مورد تجزیـه و تحلیـل آمـاری قرارگرفـت. مقایسـه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی در سطح معنی‌داری پنج درصـد انجام شد.

1- High Density Lipoprotein (HDL)
2- Low Density Lipoprotein (LDL)

نتایج و بحث

نتایج مربوط به خواص پاداکسیدانی کاسبرگ و برگ چای تـرش در جدول 2 گزارش شده است. اگر چه ویتامین C بیشـتری در بـرگ (2/55 mg/100g) در مقایسه با کاسـبرگ (1/40 mg/100g) وجـود دارد، امـا فعالیـت پـاداکسـیدانی شـامل پـاداکسـیدان کـل، فنـول و آنتوسیانین در کاسبرگ از برگ بیشتر بود که با یافته‌های موهد-ایسا و همکاران (47) هماهنگ است. در دوره پس از تولـک، اثـر عصـاره کاسبرگ و برگ چای ترش بر MDA پلاسما و زرده تخم‌مرغ معنی-دار نبود، اما سطح MDA به وسیله همه تیمارهای آزمایشی کـاهش یافت (جدول 3) که احتمالاً به دلیل خواص پاداکسیدانی چای تـرش می‌باشد (51). در این دوره، پایین‌ترین سـطح MDA در پلاسـما و زرده به ترتیب بـا مکمـل شـدن سـطوح 300 و 700 میلـی‌گـرم در کیلوگرم عصاره کاسبرگ چای ترش به دست آمد کـه پاسـخی غیـر وابسته به دوز بود. اثرات مستقل از دوز عصاره کاسبرگ شاید به علت نرخ شدید متابولیسم و دفع آنتوسیانین‌ها (72) باشد که مهم‌ترین پلی-فنول‌های موجود در کاسبرگ چای تـرش مـی باشـد. اشـباع شـدن مکانیزم‌های حمل و نقل خاص به دلیل وجود غلظت‌هـای بـالایی از چندین پلی‌فنول در عصاره نیز می‌تواند سبب نفوذپذیری پایین مخلوط پلی‌فنول‌های پیچیده چای تـرش از راه سـد روده شـده باشـد (27). کاهش بیشتر MDA به وسیله کاسبرگ در مقایسه با برگ را می‌توان به مقدار بالاتر آنتوسیانین، فنول کل و پاداکسیدان کل در کاسـبرگ نسبت داد (جدول2). در دوره تولـک، تـلاش بـرای افـزایش پایـداری

اکسیداتیو پلاسما به وسیله مکمل کردن چای ترش به طور معنی‌داری موفقیت آمیز بود که احتمالاً به دلیل تنش بیشتر پرندگان در این دوره، نقص سیستم دفاع پاداکسیدانی و آسیب‌پذیری بیشتر در برابر تنش اکسیداتیو به دنبال مصرف پایین خوراک است. سطح 300 و 700 میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره آبی-الکلی کاسبرگ چای ترش، در دوره تولک، به طور معنی‌داری ظرفیت پاداکسیدانی کل پلاسما را افزایش و سطح MDA پلاسمای خون را کاهش داد (p<0/05). اولوگاندودو و همکاران (53) گزارش کردند که افزودن عصاره آنتوسیانین چای ترش به میزان 100 میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، کاهش غلظت MDA را به میزان 22/5، 9/2 و 27/2 درصد، به ترتیب، در پلاسما، کبد و مغز خرگوش به دنبال داشت. به طور مشابه، در موش، افزودن چای ترش به جیره غنی از چربی، باعث کاهش MDA شد (68). تجویز عصاره اتانولی کاسبرگ چای ترش به میزان 200 و300 میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، باعث کاهش MDA کبد موش تا 37 درصد شد (71). علاوه بر MDA، چای ترش به دلیل ویژگی‌های پاداکسیدانی، تشکیل TBARS را در زرده تخم‌مرغ و پلاسمای خون مرغ تخم‌گذار (66)، پلاسمای خون موش (14) و شرایط برون‌تنی (28) مهار کرد که با نتایج این مطالعه هم‌خوانی دارد.

جدول2- فعالیت پاداکسیدانی چای ترش

Table 2-Antioxidant activity of *Hibiscus sabdariffa*

صفت Traits	گاسبرگ Calyx	برگ Leaf
	چای ترش *Hibiscus sabdariffa*	
پاداکسیدان کل (درصد) Total antioxidants (%)	61.71	61.21
فنول(میلی‌گرم در صد گرم) Phenol (mg/100g)	0.80	0.64
آنتوسیانین(میلی‌گرم در لیتر) Anthocyanin (Mg/l)	183.63	18.33
ویتامین C (میلی‌گرم در صد گرم) Vitamin C (mg/100g)	1.40	2.55

در هر دو آزمایش، اثر عصاره چای ترش بر سامانه ایمنی معنی‌دار نبود (p>0/05) که ممکن است نیاز به افزایش طول مدت مصرف عصاره باشد. از آن‌جا که یک دوره زمانی مشخص برای تأثیر ترکیبات موجود در چای ترش بر سامانه ایمنی لازم است، این احتمال وجود دارد که مصرف عصاره به مدت طولانی‌تر از 6 هفته بتواند در تحریک پاسخ ایمنی مؤثرتر واقع شود. پاسخ‌های ایمنی اکتسابی که به وسیله لنفوسیت‌های T و B ایجاد می‌شود، عمدتاً به صورت دو بازوی متقابل یکدیگر عمل می‌کند، به طوری که، تقویت پاسخ ایمنی هومورال موجب تضعیف پاسخ ایمنی سلولی می‌شود. لنفوسیت‌های T نیز، در اثر برخورد با یک عامل عفونی به دو دسته اصلی تبدیل می‌شود که به‌صورت دو طرفه عمل می‌کند، یعنی تقویت یکی موجب تضعیف دیگری می‌شود. لنفوسیت‌های دسته اول موجب ایجاد پاسخ‌های سلولی شده و در دفاع در برابر ویروس‌ها و باکتری‌های داخل سلولی، تومورها و عفونت‌های التهابی نقش اساسی بازی می‌کند، در حالی که، پاسخ‌های دسته دوم عمدتاً به لنفوسیت‌های B برای تولید آنتی‌بادی کمک می‌کند (1). در این پژوهش، چای ترش سبب افزایش آنتی‌بادی‌ها در مقابل ویروس نیوکاسل شد، در نتیجه تقویت سامانه ایمنی هومورال را به‌دنبال داشت. اما، با افزایش تکثیر هتروفیل‌ها و کاهش تعداد لنفوسیت‌ها سبب تضعیف سامانه ایمنی سلولی شد. شاید بتوان گفت کاهش لنفوسیتی مشاهده شده مربوط به سلول‌های دسته اول می باشد.

در هر دو آزمایش، سطح 300 میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره برگ چای ترش، بهترین تیترآنتی‌بادی را در برابر ویروس نیوکاسل ایجاد کرد. سایر تیمارها نیز بهبود عددی تیتر آنتی‌بادی را در مقایسه با گروه شاهد نشان دادند، اگرچه سطوح پایین‌تر مؤثرتر بودند. در همه تیمارهای آزمایشی در مقایسه با شاهد، نسبت هتروفیل به لنفوسیت به طور عددی افزایش یافت. افزایش نسبی تیتر آنتی‌بادی و نسبت هتروفیل به لنفوسیت با این حقیقت سازگاراست که چای ترش علاوه بر پاداکسیدان‌هایی مانند پلی‌فنول‌ها، دارای ویتامین C (74) است، در حالی‌که سنتز ویتامین C در پرندگان بالغ دچار استرس ناکافی است (31). علاوه بر تنظیم ایمنی به وسیله پاداکسیدان‌ها (57)، ویتامین C نیز می‌تواند نقش مهمی در بهبود عملکرد سامانه ایمنی بدن ایفا کند (9) و اثرات نامطلوب تنش بر سیستم ایمنی را کنترل کند (24). پایداری غشای لوکوسیت‌ها و بهبود فعالیت فاگوسیتوزی هتروفیل‌ها نیز از فعالیت‌های ویتامین C است (31). در یک پژوهش، عصاره اتانولی کاسبرگ چای ترش کاهش سطح ویتامین C ناشی از مصرف سدیم-آرسنیک را در سرم موش مهار کرد (71). مشابه با این نتایج، خدادادی و رنجبر (32) گزارش کردند که جیره حاوی چای سبز به علت وجود ویتامین C که برای عملکرد صحیح هتروفیل‌ها مورد نیاز است، سبب افزایش میزان هتروفیل در ماهی کپور شد. علاوه بر ویتامین C، بهبود ایمنی هومورال و افزایش هتروفیل می‌تواند به علت تحریک اندام‌های لنفاوی توسط ترکیباتی مانند آلکالوئیدها، ساپونین‌ها، تانن‌ها، گلیکوزیدها، فلاونوئیدها، فنول‌ها، استروئیدها و دیگر ویتامین‌هایی که در چای ترش یافت می‌شوند، باشد (40، 48). اوکوکو و اری (52) چای ترش را به عنوان یک گیاه دارای اثرات ایمنی محافظت‌کننده مهم معرفی کرد که می‌تواند مزایای دارویی قابل توجهی داشته باشد. به همین ترتیب، فکی (22) نیز، گزارش کرد عصاره چای ترش در سطوح 50 تا 100 میلی‌گرم در کیلوگرم، می-

تواند توانایی تحریک سامانه ایمنی موش را داشته باشد که با یافته‌های این پژوهش هم‌خوانی دارد. از طرف دیگر، در هر دو آزمایش، بهبود نسبی سامانه ایمنی، مشابه وضعیت پاداکسیدانی مرغ‌های تخم‌گذار، غیر وابسته به دوز بود. افزایش فعالیت عصاره‌ها در دوز کم (300 میلی‌گرم بر کیلوگرم) در مقایسه با دوز بالا (700 میلی‌گرم بر کیلوگرم) را می‌توان به افزایش قطبیت ناشی از بخش مولکولی آب نسبت داد که سبب افزایش حلالیت ترکیبات در عصاره و جذب مؤثر عصاره در غلظت رقیق از دستگاه گوارش می‌شود (37). همچنین، در مورد عصاره‌های گیاهی، پاسخ ایمنی همیشه به طور مستقیم با غلظت تنظیم‌کنندگان ایمنی مرتبط نیست و نبود فعالیت وابسته به دوز برای تنظیم ایمنی در تعدادی از پژوهش‌ها گزارش شده است (58 و 69).

جدول3- اثر عصاره گیاه چای ترش بر وضعیت پاداکسیدانی پلاسما و تعادل اکسیدانی مرغ‌های تخم‌گذار مسن

Table 3- Effect of *Hibiscus sabdariffa* plant extract on plasma antioxidant status and oxidant balance of old laying hens

صفت Traits	واحد Units	دوره	شاهد Control	برگ چای ترش (میلی‌گرم/کیلوگرم) *Hibiscus sabdariffa* leaf (mg/kg)		کاسبرگ چای ترش (میلی‌گرم/کیلوگرم) *Hibiscus sabdariffa* calyx (mg/kg)		SEM	[1]P-value
				300	700	300	700		
پاداکسیدان کل پلاسما Plasma total antioxidant	Mmol/l	تولک	0.375[b]	0.490[ab]	0.462[ab]	0.757[a]	0.735[a]	0.0811	0.0140
[2]MDA خون Blood [2]MDA	µg/l	تولک	1.198[a]	0.751[ab]	0.813[ab]	0.633[b]	0.640[b]	0.1277	0.0402
پاداکسیدان کل پلاسما Plasma total antioxidant	Mmol/l	پس از تولک	0.365	0.442	0.420	0.570	0.520	0.0959	0.5902
MDA خون Blood MDA	µg/l	پس از تولک	0.809	0.769	0.797	0.725	0.737	0.0485	0.6945
MDA زرده Yolk MDA	µg/g	پس از تولک	2.04	1.93	2.03	1.84	1.85	0.119	0.6597

[1] تفاوت میانگین‌ها[a-b] با حروف غیرمشترک در هر ردیف سطح معنی‌داری است (P< 0/05).

[1]Means [a-b] with different letters in a row differ significantly (P<0.05).
[2] Malondialdehyde

اثر عصاره‌های آبی-الکلی چای ترش بر صفات عملکردی مرغ‌های تخم‌گذار در دوره پس از تولک در جدول 5 گزارش شده است. چای ترش بر شاخص های عملکردی تأثیر معنی‌داری نداشت (p>0/05). کمترین ضریب تبدیل خوراک، بیشترین توده تخم‌مرغ تولیدی و بالاترین درصد تخم‌گذاری در پرندگان تیمار 5 که با 700 میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره کاسبرگ چای ترش تغذیه شده بودند، مشاهده شد. افزایش درصد تخم‌گذاری ممکن است به دلیل وجود فیتواستروژن‌های موجود در چای ترش (54) باشد که توانایی اتصال به گیرنده‌های استروژن را دارد و از این راه می‌تواند سبب افزایش بیوسنتز ویتلوجنین (پیش‌ساز زرده) در کبد و در نتیجه افزایش تولید تخم مرغ شود (20). گزارش شده است مکمل دیدزین که یکی از فیتواستروژن‌های مهم موجود در چای ترش است، عملکرد تخم‌گذاری اردک‌ها را در مرحله بعد از اوج تولید بهبود داد (78) و در مرغ‌های تخم‌گذار نیز سبب افزایش تولید تخم‌مرغ شد (49). همچنین، اسیدهای آلی موجود در چای ترش می‌تواند با کاهش pH دستگاه گوارش، سبب مهار رشد باکتری‌های بیماری‌زا، افزایش رشد باکتری‌های مطلوب و در نهایت کاهش نیازهای متابولیکی پرنده شود (3). خواص پاداکسیدانی چای نیز ممکن است به بهبود عملکرد پرندگان کمک کرده باشد. ضمن این‌که، مطالعات زیادی در زمینه استفاده از چای ترش در جیره مرغ تخم‌گذار گزارش نشده است. در مورد مصرف خوراک و میانگین وزن تخم‌مرغ، پرندگان تیمار سه که با جیره دارای 700 میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره برگ چای ترش تغذیه شده بودند، بیشترین کاهش را در مصرف خوراک و وزن تخم‌مرغ نسبت به تیمار شاهد نشان داد.

جدول4- اثر عصاره گیاه چای ترش بر سیستم ایمنی مرغ‌های تخم‌گذار مسن

Table 4- Effect of *Hibiscus sabdariffa* plant extract on immune system of old laying hens

صفت Traits	دوره	شاهد Control	برگ چای ترش (میلی‌گرم/کیلوگرم) *Hibiscus sabdariffa* leaf (mg/kg)		کاسبرگ چای ترش (میلی‌گرم/کیلوگرم) *Hibiscus sabdariffa* calyx (mg/kg)		SEM	P-value[1]
			300	700	300	700		
تیترآنتی‌بادی Antibody titer	تولک	8.00	8.75	8.50	8.25	8.12	0.307	0.4596
هتروفیل Heterophile	تولک	18.12	19.37	20.75	17.50	27.25	2.970	0.1932
لنفوسیت Lymphocyte	تولک	81.87	80.62	79.25	82.50	72.50	2.982	0.1769
تیترآنتی‌بادی Antibody titer	پس از تولک	7.12	8.50	7.87	7.87	7.25	0.595	0.5064
هتروفیل Heterophile	پس از تولک	23.00	25.25	27.50	28.75	28.75	1.587	0.0902
لنفوسیت Lymphocyte	پس از تولک	75.75	71.00	62.25	66.75	53.50	5.022	0.0591

[1] تفاوت میانگین‌ها[a-b] با حروف غیرمشترک در هر ردیف سطح معنی‌داری است (P< 0/05).

[1]Means [a-b] with different letters in a row differ significantly (P<0.05).

پس از تیمار سه، کمترین مصرف خوراک و وزن تخم‌مرغ مربوط به پرندگانی بود که با 300 میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره کاسبرگ چای ترش تغذیه شدند (تیمار 4). کاهش مصرف خوراک ممکن است به دلیل جذب پایین برخی از پلی‌فنول‌های موجود در چای ترش مثل آلکالوئیدها و تانن‌ها از دستگاه گوارش و در نتیجه اثر مهارکنندگی آن‌ها بر آنزیم‌های گوارشی باشد که سبب کاهش گوارش‌پذیری پروتئین، کربوهیدرات و چربی می‌شود (30). کاهش وزن تخم‌مرغ نیز احتمالاً به دلیل رابطه مثبت بین وزن تخم‌مرغ و سطح پروتئین دریافتی (10) است. افزایش نسبی درصد تخم‌گذاری همزمان با کاهش نسبی مصرف خوراک و وزن تخم‌مرغ که در سایر تیمارهای آزمایشی نیز در مقایسه با تیمار شاهد، مشاهده شد (p>0/05)، بهبود عددی توده تخم‌مرغ تولیدی و در نتیجه بهبود نسبی ضریب تبدیل خوراک را به دنبال داشت (p>0/05). هماهنگ با یافته‌های این پژوهش، فیزل و همکاران (23) کاهش گوارش‌پذیری پروتئین و فیبر و همزمان بهبود ضریب تبدیل خوراک را در خوک‌های تغذیه شده با جیره دارای منابع غنی از پلی‌فنول‌های طبیعی (دانه انگور، عصاره انگور)، گزارش کردند. به طور کلی، پلی‌فنول‌ها اثرات مبهمی بر گوارش‌پذیری مواد مغذی و عملکرد دارند. به نظر می‌رسد برخی ترکیبات موجود در چای ترش از جمله فیتواستروژن‌ها، پاداکسیدان‌ها و اسیدهای آلی اثر منفی برخی اجزای دیگر چای مثل آلکالوئیدها، تانن‌ها و پلی‌فنول‌ها را بر عملکرد مرغ‌های تخم‌گذار کاهش داده‌اند.

در میان فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون، کاهش سطح پروتئین و LDL و افزایش سطح HDL در هر دو آزمایش، در مقایسه با تیمار شاهد، مشاهده شد (p>0/05). همچنین، کاهش معنی‌دار گلوکز، کلسترول و تری‌گلیسرید خون در دوره پس از تولک و کاهش معنی‌دار کلسترول و تری‌گلیسرید خون در دوره تولک به وسیله سطح 700 میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره برگ چای ترش مشاهده شد (جدول‌های 6 و 7). دلیل کاهش سطح پروتئین خون، احتمالاً اتصال ترکیبات پلی فنولی چای ترش به هر دو پروتئین‌های غذایی و درونزا[1] مانند آنزیم‌های گوارشی و پروتئین‌های واقع در قسمت لومینال مجرای روده‌ای است که می‌تواند سبب کاهش گوارش ظاهری پروتئین شود.

پلی‌فنول‌ها می‌تواند به وسیله برهمکنش گروه‌های هیدروکسیل فعال خود با گروه کربونیل پروتئین، کمپلکس‌هایی با پروتئین تشکیل دهد و از این راه گوارش‌پذیری پروتئین و اسیدآمینه را کاهش دهد (55). کاهش سطح پروتئین تام خون ممکن است ناشی از تحریک گلوکونئوژنز به دنبال کاهش مصرف خوراک و کاهش گلوکز خون نیز باشد (35). در بیشتر پژوهش‌های منتشر شده، کاهش گلوکز خون را به اثر مهارکنندگی چای ترش بر آنزیم‌های هیدرولیزکننده کربوهیدرات (آلفاآمیلاز و آلفاگلوکوزیداز) نسبت داده‌اند (2، 4، 26، 41). از طرف دیگر، کوبایاشی و همکاران (34) گزارش کردند که اسید کلروژنیک (یکی از پلی‌فنول‌های مهم برگ چای ترش) به وسیله مهار انتقال‌دهنده‌های گلوکز وابسته به سدیم سبب کاهش جذب گلوکز از روده شد. در دوره تولک، احتمالاً به دلیل مصرف کمتر خوراک و به دنبال آن ترشح کمتر آنزیم‌های گوارشی، اثر کاهندگی چای ترش بر سطح گلوکز خون، برخلاف دوره پس از تولک ، معنی‌دار نبود.

1- Endogenous

جدول5- اثر عصاره گیاه چای ترش بر فراسنجه‌های عملکردی مرغ تخم‌گذار در مرحله دوم تخم‌گذاری

Table 5 - Effect of *Hibiscus sabdariffa* plant extract on functional parameters of laying hens in postmolting period

صفت Traits	شاهد Control	برگ چای ترش (میلی‌گرم/کیلوگرم) *Hibiscus sabdariffa* leaf (mg/kg)		کاسبرگ چای ترش (میلی‌گرم/کیلوگرم) *Hibiscus sabdariffa* calyx (mg/kg)		SEM	[1]P-value
		300	700	300	700		
درصد تولید تخم مرغ Egg production (%)	63.03	64.13	66.60	65.64	67.00	1.540	0.3597
میانگین وزن تخم مرغ (گرم) Egg weight (g)	66.56	65.48	64.00	64.49	65.60	0.651	0.0981
توده تخم‌مرغ تولیدی Egg mass (g/day)	42.02	42.17	42.81	42.44	44.18	1.030	0.6008
مصرف خوراک (گرم در روز) Feed intake (g/day)	98.02	97.88	96.43	97.47	97.96	0.780	0.5897
ضریب تبدیل خوراک Feed conversion ratio	2.47	2.42	2.38	2.41	2.37	0.072	0.8999

[1] تفاوت میانگین‌ها$^{a-b}$ با حروف غیرمشترک در هر ردیف سطح معنی‌داری است (P< 0/05).

[1]Means $^{a-b}$ with different letters in a row differ significantly (P<0.05).

جدول6- اثر عصاره گیاه چای ترش بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون و چربی زرده تخم‌مرغ تخم‌گذار در مرحله دوم تخم‌گذاری

Table 6 - Effect of *Hibiscus sabdariffa* plant extract on blood biochemical parameters and yolk lipid of laying hens in postmolting period

صفت Traits	واحد Units	شاهد Control	برگ چای ترش (میلی‌گرم/کیلوگرم) *Hibiscus sabdariffa* leaf (mg/kg)		کاسبرگ چای ترش (میلی‌گرم/کیلوگرم) *Hibiscus sabdariffa* calyx (mg/kg)		SEM	[1]P-value
			300	700	300	700		
کلسترول Cholesterol	mg/dl	188.01^{a}	178.80^{ab}	155.50^{b}	169.56^{ab}	186.50^{ab}	7.441	0.0409
تری‌گلیسرید Triglyceride	mg/dl	1867.76^{a}	1825.07^{ab}	1556.25^{b}	1674.73^{ab}	1940.51^{a}	68.599	0.0084
گلوکز Glucose	mg/dl	204.96^{a}	166.85^{ab}	126.42^{b}	166.74^{ab}	197.81^{a}	14.503	0.0125
پروتئین تام Total protein	mg/dl	6.17	5.55	4.42	5.13	6.13	0.602	0.2592
LDL	mg/dl	90.43	82.62	62.60	74.50	88.60	8.046	0.1437
HDL	mg/dl	67.43	68.63	72.02	70.22	68.36	8.966	0.9965
کلسترول زرده Yolk cholesterol	mg/g	16.86^{a}	15.40^{ab}	15.03^{b}	16.77^{ab}	16.64^{ab}	0.414	0.0165
تری‌گلیسرید زرده Yolk triglyceride	mg/g	184.56	162.57	154.24	172.93	170.50	8.702	0.1993

[1] تفاوت میانگین‌ها$^{a-b}$ با حروف غیرمشترک در هر ردیف سطح معنی‌داری است (P< 0/05).

[1]Means $^{a-b}$ with different letters in a row differ significantly (P<0.05).

همزمان با کاهش معنی‌دار کلسترول و تری‌گلیسرید خون، سطح کلسترول و تری‌گلیسرید زرده نیز کاهش نشان داد که با یافته‌های اچانی و میلو (51) هماهنگ بود. در پژوهش مشابهی، بعد از چهار هفته مصرف عصاره برگ چای ترش در موش‌های با چربی خون بالا، کلسترول و تری‌گلیسرید سرم خون کاهش یافت (80). کارواجال-زرابال و همکاران (11) نشان دادند که افزودن عصاره الکلی چای ترش در جیره موش به میزان 5 درصد، بهترین نتیجه را در کاهش لیپیدهای سرم داشت، به طوری که، اسید هیبیسکاس موجود در چای ترش با تولید ماده‌ای در دستگاه گوارش که مهارکننده رقابتی سیترات لیاز است، ساخت تری‌اسیل‌گلیسرول را مهار کرد. لین و همکاران (36) گزارش کردند، احتمالاً ترکیباتی در عصاره چای ترش وجود دارد که هورمون‌های آدرینوکورتیکال را فعال می‌کند و از این راه مسیر متابولیکی کلسترول را به وسیله تبدیل به ترکیبات دیگر تحریک می‌کند.

جدول7- اثر عصاره گیاه چای ترش بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون مرغ تخم‌گذار در مرحله تولک (میلی‌گرم در دسی لیتر)

Table 7- Effect of *Hibiscus sabdariffa* plant extract on blood biochemical parameters of laying hens in molting period (mg/dl)

صفت Traits	شاهد Control	برگ چای ترش (میلی‌گرم/کیلوگرم) *Hibiscus sabdariffa* leaf (mg/kg)		کاسبرگ چای ترش (میلی‌گرم/کیلوگرم) *Hibiscus sabdariffa* calyx (mg/kg)		SEM	P-value[1]
		300	700	300	700		
کلسترول Cholesterol	179.95[a]	173.02[ab]	143.83[b]	167.50[ab]	178.36[ab]	8.254	0.0457
تری‌گلیسرید Triglyceride	609.70[a]	525.78[ab]	446.70[b]	510.77[ab]	544.72[ab]	31.003	0.0299
گلوکز Glucose	177.67	177.03	172.79	175.11	177.43	16.220	0.9994
پروتئین تام Total protein	6.05	5.88	5.67	5.79	6.00	0.704	0.9948
LDL	81.84	76.23	50.98	69.56	80.61	8.128	0.0952
HDL	70.82	71.37	75.85	74.75	70.87	6.908	0.9736

[1] تفاوت میانگین‌ها[a-b] با حروف غیرمشترک در هر ردیف سطح معنی‌داری است (P< 0/05).

[1]Means [a-b] with different letters in a row differ significantly (P<0.05).

کیم و همکاران (33) مهار سنتز چربی توسط چای ترش را نه به هورمون‌ها، بلکه با مهار عوامل رونویسی سنتزکننده کلسترول و تری-گلیسرید مرتبط دانستند. هیرانپنیچ و همکـاران (29) کـاهش چربـی توسط چای ترش را به بتاسیتوسترول موجود در گیـاه نسـبت دادنـد. عمل استرول‌های گیاهی در کاهش چربی بـه وسـیله افـزایش دفـع متابولیت‌های استرول از مدفوع و نیز افزایش میزان دفـع و تـرن‌اور[1] کلسترول از راه صفرا است (63). کاهش در میزان بازسازی اسیدهای صفراوی، کاهش غلظت کلسترول سرم را به دنبال دارد زیرا کلسترول صرف سنتز اسیدهای صفراوی مـی‌شـود (65). دلیـل دیگـر کـاهش کلسترول خون، می‌تواند کاهش LDL خون به وسیله پلی‌فنول‌هـای موجود در چای ترش باشد. گزارش شده است عصاره پلی‌فنـول‌هـای چای ترش بیان mRNA گیرنده‌های LDL روی سطح سـلول‌هـای کبد را افزایش داد و در نتیجه، سبب افزایش تعداد این گیرنده‌ها شده باشد تا به وسیله انتقال LDL از پلاسما به کبد، جذب بیشتر LDL را انجام دهد و در نهایت سبب کاهش غلظت کلسترول LDL پلاسـما گردد (76).

مشابه کلسترول خون، کمترین سطح کلسترول زرده نیز به وسیله سطح 700 میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره برگ چای ترش مشاهده شد. به طور کلی، مقدار اندکی از کلسترول ساخته شده در تخمدان، صرف رشد تخمک‌ها می‌شود و سهم تخمدان در سطح کلسترول تخم‌مـرغ کم است. در مقابل، کلسترول بـه آسـانی از خـون بـه درون غشـای تخمدان برای رشد تخمک منتقل می‌شود. بنابراین بیشـتر کلسـترول زرده تخم‌مرغ از کلسترول خون نشأت می‌گیرد (21). به همین دلیل، کاهش کلسترول موجود در تخم‌مرغ می‌تواند به دلیل کاهش غلظـت کلسترول خون باشد. از طرف دیگر، کـاهش کلسـترول تخـم‌مـرغ را شاید بتوان به افزایش تعداد فولیکول‌های در حال رشد نسبت داد کـه سبب می‌شود کلسترول و چربی، به عنوان جزء اصلی زرده، در تعـداد بیشتری از فولیکول‌ها توزیع شود و در نتیجه، مقدار کلسترول و چربی در هر تخم‌مرغ کاهش یابد (61).

نتیجه‌گیری کلی

یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد عصاره آبـی-الکلـی چـای ترش، به ویژه برگ آن که در ایران دور ریخته شده و مصرف انسانی ندارد، می‌تواند با کمترین هزینه، اثرات مفید قابل تـوجهی مثـل اثـر ضدلیپیدی، بهبود وضعیت پاداکسیدانی کل پلاسـما و بهبـود تعـادل اکسیدانی را در مرغ‌های تخم‌گذار مسن داشته باشد، بدون اینکـه اثـر منفی قابل توجهی بر فراسنجه‌های عملکردی و ایمنی نشان دهد.

1- Turn over

منابع

1- Abbas, A. K., A. H. Lichtman, and S. Pillai. 2014. Pages 213-493 in Cellular and molecular immunology. Elsevier Health Sciences, Amsterdam.
2- Ademiluyi, A. O., and G. Oboh. 2013. Aqueous extracts of roselle (hibiscus sabdariffa linn.) varieties inhibit α-amylase and α-glucosidase activities in vitro. Journal of Medicinal Food, 16(1):88-93.
3- Adil, S., T. Banday, G. A. Bhat, M. S. Mir, and M. Rehman. 2010. Effect of dietary supplementation of organic acids on performance, intestinal histomorphology, and serum biochemistry of broiler chicken. Veterinary Medicine International, 2010: 1-7.
4- Agoreyo, F., B. Agoreyo, and M. Onuorah. 2008. Effect of aqueous extracts of hibiscus sabdariffa and zingiber officinale on blood cholesterol and glucose levels of rats. African Journal of Biotechnology, 7(21): 3949-3951.
5- Ahmadian-Baghbadorani, N., H. Azhdari-Zarmehri, S. Puzesh, F. S. Mousavi, and F. Rajaei. 2014. Antinociceptive effect of hydroalcoholic extract of green tea in male mice. KAUMS Journal (FEYZ), 17(6):528-536.
6- Al-Batshan, H., S. Scheideler, B. Black, J. Garlich, and K. Anderson. 1994. Duodenal calcium uptake, femur ash, and eggshell quality decline with age and increase following molt. Poultry Science, 73(10):1590-1596.
7- Allan, W., and R. Gough. 1974. A standard haemagglutination inhibition test for newcastle disease. (1). A comparison of macro and micro methods. Veterinary Record, 95(6):120-123.
8- Anwar, H., Z. Rahman, I. Javed, and F. Muhammad. 2012. Effect of protein, probiotic, and symbiotic supplementation on serum biological health markers of molted layers. Poultry Science, 91(10):2606-2613.
9- Bendich, A. 1990. Antioxidant vitamins and their functions in immune responses. Pages 35-55 in Antioxidant nutrients and immune functions. Springer, Boston, MA.
10- Calderon, V. M., and L. S. Jensen. 1990. The requirement for sulfur amino acid by laying hens as influenced by the protein concentration. Poultry Science, 69(6):934-944.
11- Carvajal-Zarrabal, O., S. M. Waliszewski, D. M. Barradas-Dermitz, Z. Orta-Flores, P. M. Hayward-Jones, C. Nolasco-Hipólito, O. Angulo-Guerrero, R. Sánchez-Ricaño, R. M. Infanzón, and P. R. Trujillo. 2005. The consumption of hibiscus sabdariffa dried calyx ethanolic extract reduced lipid profile in rats. Plant Foods for Human Nutrition, 60(4): 153-159.
12- Cason, J., N. Cox, and J. Bailey. 1994. Transmission of salmonella typhimurium during hatching of broiler chicks. Avian Diseases, 583-88.
13- Cetin, E., S. Silici, N. Cetin, and B. Güçlü. 2010. Effects of diets containing different concentrations of propolis on hematological and immunological variables in laying hens. Poultry science, 89(8):1703-1708.
14- Chen, C. C., F. P. Chou, Y. C. Ho, W. L. Lin, C. P. Wang, E. S. Kao, A. C. Huang, and C. J. Wang. 2004. Inhibitory effects of hibiscus sabdariffa l extract on low-density lipoprotein oxidation and anti-hyperlipidemia in fructose-fed and cholesterol-fed rats. Journal of the Science of Food and Agriculture, 84(15):1989-1996.
15- Cheng, T. K., C. N. Coon, and M. L. Hamre. 1990. Effect of environmental stress on the ascorbic acid requirement of laying hens. Poultry Science, 69(5):774-780.
16- Cherian, G., F. Wolfe, and J. Sim. 1996. Dietary oils with added tocopherols: Effects on egg or tissue tocopherols, fatty acids, and oxidative stability. Poultry Science, 75(3):423-431.
17- Chuah, A. M., Y.-C. Lee, T. Yamaguchi, H. Takamura, L.-J. Yin, and T. Matoba. 2008. Effect of cooking on the antioxidant properties of coloured peppers. Food Chemistry, 111(1):20-28.
18- Davis, G., K. Anderson, and A. Carroll. 2000. The effects of long-term caging and molt of single comb white leghorn hens on heterophil to lymphocyte ratios, corticosterone and thyroid hormones. Poultry Science, 79(4):514-518.
19- de Cordova, C. M. M., and M. M. de Cordova. 2013. A new accurate, simple formula for ldl-cholesterol estimation based on directly measured blood lipids from a large cohort. Annals of Clinical Biochemistry, 50(1):13-19.
20- El-Ghalid, O. 2009. Exogenous estradiol: Blood profile, productive and reproductive performance of female japanese quails at different stages of production. Asian Journal of Poultry Science, 3(1):1-8.
21- Elkin, R. G., Z. Yan, Y. Zhong, S. S. Donkin, K. K. Buhman, J. A. Story, J. J. Turek, R. E. Jr. Porter, M. Anderson, R. Homan, and R. S. Newton. 1999. Select 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase inhibitors vary in their ability to reduce egg yolk cholesterol levels in laying hens through alteration of hepatic cholesterol biosynthesis and plasma VLDL composition. Journal of Nutrition, 129(5): 1010-1019.
22- Fakaye, T. 2008. Toxicity and immunomodulatory activity of fractions of hibiscus sabdariffa linn (family malvaceae) in animal models. African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines, 5(4):394-398.
23- Fiesel, A., D. K. Gessner, E. Most, and K. Eder. 2014. Effects of dietary polyphenol-rich plant products from

grape or hop on pro-inflammatory gene expression in the intestine, nutrient digestibility and faecal microbiota of weaned pigs. BMC Veterinary Research, 10(1): 196-206.
24- Gous, R., and T. Morris. 2005. Nutritional interventions in alleviating the effects of high temperatures in broiler production. World's Poultry Science Journal, 61(3):463-475.
25- Gross, W., and H. Siegel. 1983. Evaluation of the heterophil/lymphocyte ratio as a measure of stress in chickens. Avian Diseases, 972-979.
26- Hansawasdi, C., J. Kawabata, and T. Kasai. 2000. A-amylase inhibitors from roselle (hibiscus sabdariffa linn.) tea. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 64(5):1041-1043.
27- Herranz -Lopez, M., M. Olivares-Vicente, J. Encinar, E. Barrajón-Catalán, A. Segura-Carretero, J. Joven, and V. Micol. 2017. Multi-targeted molecular effects of Hibiscus sabdariffa polyphenols: an opportunity for a global approach to obesity. Nutrients, 9(8): 907-933.
28- Hirunpanich, V., A. Utaipat, N. P. Morales, N. Bunyapraphatsara, H. Sato, A. Herunsalee, and C. Suthisisang. 2005. Antioxidant effects of aqueous extracts from dried calyx of hibiscus sabdariffa linn.(roselle) in vitro using rat low-density lipoprotein (ldl). Biological and Pharmaceutical Bulletin, 28(3):481-484.
29- Hirunpanich, V., A. Utaipat, N. P. Morales, N. Bunyapraphatsara, H. Sato, A. Herunsale, and C. Suthisisang. 2006. Hypocholesterolemic and antioxidant effects of aqueous extracts from the dried calyx of hibiscus sabdariffa l. In hypercholesterolemic rats. Journal of Ethnopharmacology, 103(2):252-260.
30- Karaś, M., A. Jakubczyk, U. Szymanowska, U. Złotek, and E. Zielińska. 2017. Digestion and bioavailability of bioactive phytochemicals. International Journal of Food Science & Technology, 52(2):291-305.
31- Khan, R., S. Naz, Z. Nikousefat, M. Selvaggi, V. Laudadio, and V. Tufarelli. 2012. Effect of ascorbic acid in heat-stressed poultry. World's Poultry Science Journal, 68(3):477-490.
32- Khodadadi, M., and S. Rangbar.2016. Effect of adding green tea powder (Camellia sinensis) to some immune factors and serum proteins in *Cyprinus carpio*. Iran Veterinary Journal, 12(2): 43-54. (In Persian).
33- Kim, J.-K., H. So, M.-J. Youn, H.-J. Kim, Y. Kim, C. Park, S.-J. Kim, Y.-A. Ha, K.-Y. Chai, and S.-M. Kim. 2007. Hibiscus sabdariffa l. Water extract inhibits the adipocyte differentiation through the pi3-k and mapk pathway. Journal of Ethnopharmacology, 114(2):260-267.
34- Kobayashi, Y., M. Suzuki, H. Satsu, S. Arai, Y. Hara, K. Suzuki, Y. Miyamoto, and M. Shimizu. 2000. Green tea polyphenols inhibit the sodium-dependent glucose transporter of intestinal epithelial cells by a competitive mechanism. Journal of agricultural and food chemistry, 48(11):5618-5623.
35- Leresche, R., U. Seal, and P. Karns. 1974. Review of blood chemistry of moose and other cervidae with emphasis on nutritional assessment. Naturaliste Canadien, 101: 263-290.
36- Lin, H.-H., J.-H. Chen, and C.-J. Wang. 2011. Chemopreventive properties and molecular mechanisms of the bioactive compounds in hibiscus sabdariffa linne. Current Medicinal Chemistry, 18(8):1245-1254.
37- Lubega, A. M., G. S. Bbosa, N. Musisi, J. Erume, and J. Ogwal-Okeng. 2013. Effect of the total crude extracts of Hibiscus sabdariffa on the immune system in the Wistar albino rats. African Journal of Pharmacy and Pharmacology, 7:1942-1949.
38- Lucas, A. M., and P. R. Stettenheim. 1972. Avian Anatomy Integument, Part 1. US Government Printing Office, Washington, DC.
39- Luhman, C. M., B. G. Miller, and D. C. Beitz. 1990. Research note: The effect of feeding lovastatin and colestipol on production and cholesterol content of eggs. Poultry Science, 69(5):852-855.
40- Manivasagam, T. T., K. Dakshayani, S. S. Subash, and R. R. Sivaperumal. 2006. Protective influence of hibiscus sabdariffa, an edible medicinal plant, on tissue lipid peroxidation and antioxidant status in hyperammonemic rats. African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines, 3(3):10-21.
41- Mantruad, A., P. Pannangpetch, B. Kongyingyoes, U. Kukongviriyapan, S. Chuanta, S. Nakmareong, and A. Itharat. 2010. Roselle extract and gallic acid improve vascular reactivity of diabetic rats. Srinagarind Medical Journal, 257-261.
42- McFarlane, J. M., and S. E. Curtis. 1989. Multiple concurrent stressors in chicks. 3. Effects on plasma corticosterone and the heterophil: Lymphocyte ratio. Poultry Science, 68(4):522-527.
43- McReynolds, J., K. Genovese, H. He, C. Swaggerty, J. Byrd, S. Ricke, D. Nisbet, and M. Kogut. 2009. Alfalfa as a nutritive modulator in maintaining the innate immune response during the molting process. Journal of Applied Poultry Research, 18(3):410-417.
44- Miller, N. J., C. Rice-Evans, M. J. Davies, V. Gopinathan, and A. Milner. 1993. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. Clinical Science, 84:407-412.
45- Minka, N., A. Fayomi, and J. Ayo. 2007. Protective influence calyces of hibiscus sabdariffa against heat stress in laying hens during the hot-dry season. Research Journal of Poultry Science, 1(1):7-11.
46- Mohammadi, F., F. Bagherzadeh Kasmani, K. Shojaeian, M. Mehri, and M. A. Karimi Torshizi. 2015. Effect of *Hibiscus sabdariffa* on performance, immune response, and biochemical parameters in broiler chickens fed normal or aflatoxin contaminated diets. Animal Production, 17(2):301-309. (In Persian).

47- Mohd-Esa, N., F. S. Hern, A. Ismail, and C. L. Yee. 2010. Antioxidant activity in different parts of roselle (hibiscus sabdariffa l.) extracts and potential exploitation of the seeds. Food Chemistry, 122(4):1055-1060.
48- Mungole, A., and A. Chaturvedi. 2011. Hibiscus sabdariffa l a rich source of secondary metabolites. International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research, 6(1):83-87.
49- Ni, Y., Q. Zhu, Z. Zhou, R. Grossmann, J. Chen, and R. Zhao. 2007. Effect of dietary daidzein on egg production, shell quality, and gene expression of er-α, gh-r, and igf-ir in shell glands of laying hens. Journal of agricultural and food chemistry, 55(17):6997-7001.
50- North, M. O. 1984. Pages 270-292 in Commercial chicken production manual. Third Edition. The Avi Publishing Company, Inc., Dawsonville, Georgia, USA.
51- Ochani, P. C., and P. D'Mello. 2009. Antioxidant and antihyperlipidemic activity of hibiscus sabdariffa linn. Leaves and calyces extracts in rats. Indian Journal of Experimental Biology, 47(4):276-282.
52- Okoko, T., and D. Ere. 2012. Hibiscus sabdariffa extractivities on cadmium—mediated alterations of human u937 cell viability and activation. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, 5(1):33-36.
53- Ologundudu, A., A. Ologundudu, O. Oluba, I. Omotuyi, and F. Obi. 2010. Effect of hibiscus sabdariffa anthocyanins on 2, 4-dinitrophenylhydrazine-induced tissue damage in rabbits. Journal of Toxicology and Environmental Health Sciences, 2(1):1-6.
54- Omotuyi, I., A. Ologundudu, V. Onwubiko, M. Wogu, and F. Obi. 2010. Hibiscus sabdariffa linn. Anthocyanins alter circulating reproductive hormones in rabbits (oryctolagus cuniculus). Journal of Diabetes and Endocrinology, 1(3):36-45.
55- Ortiz, L., C. Centeno, and J. Trevino. 1993. Tannins in faba bean seeds: Effects on the digestion of protein and amino acids in growing chicks. Animal Feed Science and Technology, 41(4):271-278.
56- Perek, M., and F. Sulman. 1945. The basal metabolic rate in molting and laying hens. Endocrinology, 36:240-243.
57- Qureshi, M., and A. Gore. 1997. Vitamin e exposure modulates prostaglandin and thromboxane production by avian cells of the mononuclear phagocytic system. Immunopharmacology and immunotoxicology, 19(4):473-487.
58- Rezaeipoor, R., S. Saeidnia, and M. Kamalinejad. 2000. The effect of plantago ovata on humoral immune responses in experimental animals. Journal of ethnopharmacology, 72(1-2):283-286.
59- Saeed, I. A., L. Ali, A. Jabeen, M. Khasawneh, T. A. Rizvi, and S. S. Ashraf. 2012. Estrogenic activities of ten medicinal herbs from the middle east. Journal of Chromatographic Science, 51(1):33-39.
60- Sahin, K., C. Orhan, M. Tuzcu, S. Ali, N. Sahin, and A. Hayirli. 2010. Epigallocatechin-3-gallate prevents lipid peroxidation and enhances antioxidant defense system via modulating hepatic nuclear transcription factors in heat-stressed quails. Poultry Science, 89(10):2251-2258.
61- Saraswati, T. R., W. Manalu, D. R. Ekastuti, and N. Kusumorini. 2013. Increased egg production of Japanese quail (Cortunix japonica) by improving liver function through turmeric powder supplementation. International Journal of Poultry Science, 12(10): 601-614.
62- SAS Institute. 2015. SAS Users Guide: Statistics. SAS Institute Inc., Cary, NC.
63- Sim, J., W. Kitts, and D. Bragg. 1980. Influence of dietary oil, cholesterol, and soysterols on the fecal neutral and acidic steroid excretion in laying hens. Poultry science, 59(2):325-327.
64- Smith, W. S., C. Green, and M. Jerry. 2003. Determination of ascorbic acid (vitamin C) in commerical tablets by iodometric titration, Department of Chemistry, Stevens Institute of Technology.
65- St-Onge, M.-P., E. R. Farnworth, and P. J. Jones. 2000. Consumption of fermented and nonfermented dairy products: effects on cholesterol concentrations and metabolism. The American Journal of Clinical Nutrition, 71(3):674-681.
66- Sukkhavanit, P., K. Angkanaporn, and S. Kijparkorn. 2011. Effect of roselle (hibiscus sabdariffa linn.) calyx in laying hen diet on egg production performance, egg quality and tbars value in plasma and yolk. The Thai Journal of Veterinary Medicine, 41(3):337.
67- Swain, T. 1965. Page 541 in Analytical methods for flavonoids. Academic Press, London, UK.
68- Tee, P.-L., S. Yusof, S. Mohamed, N. Aimi Umar, and N. Mohamed Mustapha. 2002. Effect of roselle (hibiscus sabdariffa l.) on serum lipids of sprague dawley rats. Nutrition & Food Science, 32(5):190-196.
69- Tiwari, U., B. Rastogi, P. Singh, D. K. Saraf, and S. P. Vyas. 2004. Immunomodulatory effects of aqueous extract of tridax procumbens in experimental animals. Journal of Ethnopharmacology, 92(1):113-119.
70- Turkmen, N., F. Sari, and Y. S. Velioglu. 2005. The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. Food Chemistry, 93(4):713-718.
71- Usoh, I., E. Akpan, E. Etim, and E. Farombi. 2005. Antioxidant actions of dried flower extracts of hibiscus sabdariffa l. On sodium arsenite-induced oxidative stress in rats. Pakistan Journal of Nutrition, 4(3):135-141.
72- Vanzo, A., M. Terdoslavich, A. Brandoni, A. M. Torres, U. Vrhovsek, and S. Passamonti. 2008. Uptake of grape anthocyanins into the rat kidney and the involvement of bilitranslocase. Molecular Nutrition & Food Research, 52(10):1106-1116.
73- Wang, J., X. Cao, H. Jiang, Y. Qi, K. L. Chin, and Y. Yue. 2014. Antioxidant activity of leaf extracts from different hibiscus sabdariffa accessions and simultaneous determination five major antioxidant compounds by lc-

q-tof-ms. Molecules, 19(12):21226-21238.

74- Wong, P.-K., S. Yusof, H. Ghazali, and Y. Che Man. 2002. Physico-chemical characteristics of roselle (hibiscus sabdariffa l.). Nutrition & Food Science, 32(2):68-73.

75- Xu, X., Y. Hu, W. Xiao, J. a. Huang, X. He, J. Wu, E. P. Ryan, and T. L. Weir. 2012. Effects of fermented camilla sinensis, fuzhuan tea, on egg cholesterol and production performance in laying hens. Agriculture and Food Science, 1:006-010.

76- Yang, M. Y., C. H. Peng, K. C. Chan, Y. S. Yang, C. N. Huang, and C. J. Wang. 2010. The hypolipidemic effect of Hibiscus sabdariffa polyphenols via inhibiting lipogenesis and promoting hepatic lipid clearance. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 58(2): 850-859.

77- Yoshioka, T., K. Kawada, T. Shimada, and M. Mori. 1979. Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against activated-oxygen toxicity in the blood. American Journal of Obstetrics and Gynecology, 135(3):372-376.

78- Zhao, R., Y. Zhou, Y. Ni, L. Lu, Z. Tao, W. Chen, and J. Chen. 2005. Effect of daidzein on egg-laying performance in shaoxing duck breeders during different stages of the egg production cycle. British poultry science, 46(2):175-181.

79- Zhao, X., Z. Yang, W. Yang, Y. Wang, S. Jiang, and G. Zhang. 2011. Effects of ginger root (zingiber officinale) on laying performance and antioxidant status of laying hens and on dietary oxidation stability. Poultry science, 90(8):1720-1727.

80- Zhen, J., T. S. Villani, Y. Guo, Y. Qi, K. Chin, M.-H. Pan, C.-T. Ho, J. E. Simon, and Q. Wu. 2016. Phytochemistry, antioxidant capacity, total phenolic content and anti-inflammatory activity of hibiscus sabdariffa leaves. Food Chemistry, 190:673-680.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 12, No. 1, Spring 2020, p. 87-101

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد 12، شماره 1، بهار 1399، ص. 101-87

The Effect of Sour Tea (*Hibiscus sabdariffa*) Plant Extract on Immune System, Plasma Antioxidant Status, Oxidant Balance and Blood Biochemical and Functional Parameters of Old Laying Hens

Sh. Sabet Sarvestani[1]- S. M. Hosseini[2*]- S. H. Farhangfar[3]

Received: 22-12-2018
Accepted: 24-06-2019

Introduction: Stress increases the need for antioxidants, decreases eggs production and weakens immune system of laying hens. Since there is insufficient knowledge about overcoming natural stress conditions with minimal cost and side effects in old laying hens, the medicinal herb contained flavonoid and polyphenolic compounds are concerned. Apart from estrogenic, antibacterial effects and cholesterol reduction property that will result to lower cholesterol deposition in poultry products and where calyx and leaf of *Hibiscus sabdariffa* are known as potent antioxidant. Therefore, these experiments were designed to investigate the effect of *Hibiscus sabdariffa* extract as natural antioxidants on the immune system, blood biochemical parameters, plasma antioxidant status and the antioxidant balance of laying hens during molting and post-molting periods, also, laying performance and egg yolk cholesterol in the second phase of laying hen egg production.

Materials and Methods: In these experiments, aqueous-alcoholic extract of calyx and leaf of *Hibiscus sabdariffa* were prepared and sprayed on feed at levels of 300 and 700 mg/kg. One liter of %96 ethanol/distilled water mixture (30:70) were used to infuse 100 g each of the plant material (calyx or leaf) for 24 h. During the pre-experimental stage, minerals composition and antioxidant properties of *Hibiscus sabdariffa* were measured. Each of the main experiments, were conducted with 200 laying hens in a completely randomized design. In both experiments, five treatments consisted of control diet (basal diet), basal diet with 300 and 700 mg/kg of leaf extract of *Hibiscus sabdariffa* and basal diet with 300 and 700 mg/kg *Hibiscus sabdariffa* calyx extract. In both experiments, the blood cholesterol, total protein, triglyceride, LDL, HDL, glucose and malondialdehyde were evaluated by Spectrophotometer auto analyzer. In the end of each experiment, immune system and plasma antioxidant status for 2 samples from each replicate were determined. The egg production, egg weight, egg mass, feed intake and feed conversion ratio were recorded weekly. The egg malondialdehyde was determined during post molting period. In order to measure the level of yolk cholesterol and triglyceride, in the end of the experimental period, 2 samples were randomly taken from each replicate and after separating the yolks and mixing them, were analyzed by Spectrophotometer auto-analyzer with enzymatic method. The data were statistically analyzed with the general linear model by SAS software. The mean differences between treatments were studied by Tukey's test.

Results and Discussion: Although there was more vitamin C in the leaf compared to calyx, the antioxidant activity including total antioxidants, phenols and anthocyanins in calyx were higher than leaf. In both experiments, plasma antioxidant status of laying hens in a dose-independent manner were improved. During post molt period, attempt to increase oxidative stability of plasma and egg yolk also, improving plasma antioxidant status by dietary supplementation of *Hibiscus sabdariffa* extract was not significant, however, the *Hibiscus sabdariffa* calyx at 300 and 700 mg/kg levels, significantly affected plasma MDA and total antioxidant capability during molting period. In both experiments, the relative increase in antibody titers and the ratio of heterophil to lymphocyte were observed by all treatments as compared to the Control treatments. *Hibiscus sabdariffa* showed to have no significant effect on performance parameters. Probably, the negative effect of polyphenol compounds found in *Hibiscus sabdariffa* on digestive enzymes decreased lipid, protein and carbohydrates digestibility, thus reduced feed intake, egg weight

1 -Ph.D. Graduate, Department of Animal Science, University of Birjand, Birjand, Iran
2-Associate Professor, Department of Animal Sciences, University of Birjand, Birjand, Iran
3 -Professor, Department of Animal Sciences, University of Birjand, Birjand, Iran
(*- Corresponding Email: shosseini@birjand.ac.ir)
DOI:10.22067/ijasr.v12i1.77717

and total blood protein, insignificantly, blood glucose and cholesterol, significantly. Also, the *Hibiscus sabdariffa*, especially leaf, decreased the yolk cholesterol and triglyceride. On the other hand, supplementation of *Hibiscus sabdariffa* at 700 mg/kg, improved production performance following feed conversion ratio compared with Control treatment that's probably due to quercetin and daidzein phytoestrogens found in *Hibiscus sabdariffa*. It seems that some compounds in *Hibiscus sabdariffa*, including phytoestrogens and organic acids that has been reduced the negative effect of other *Hibiscus sabdariffa* components on the performance of laying hens.

Conclusion: It can be concluded that *Hibiscus sabdariffa*, especially its leaves, which are discarded in most countries, including Iran, have the significant beneficial effects, such as anti-lipid effects, improvement of total plasma antioxidant and oxidative balance of old laying hens, with minimal cost and no significant negative effect on functional and immune parameters. It seems that finding of effective dose of *Hibiscus sabdariffa* is important to achieve layer hens' maximum efficacy according to the test conditions and can economically be extended the range of its usage.

Keywords: Antibody titer, Malondialdehyde, Molting, Sour tea.